

Title	Analysis of Tumorigenesis in Human Papillomavirus Transgenic Mouse
Author(s)	李, 勤
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40005">https://hdl.handle.net/11094/40005</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	李 勤 <sup>り きん</sup>
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 13008 号
学位授与年月日	平成9年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科病理系専攻
学位論文名	Analysis of Tumorigenesis in Human Papillomavirus Transgenic Mouse (ヒトパピローウイルストランスジェニックマウスにおける発癌機構の解析)
論文審査委員	(主査) 教授 羽倉 明  (副査) 教授 秋山 徹 教授 青笹 克之

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

ヒトパピローウイルス (HPV) は子宮頸癌, 疣贅状表皮発育異常症 (EV) 等の上皮性腫瘍の発生に関与するウイルスである。このウイルスの癌化能を個体レベルで解析するため, 子宮頸癌組織中より高頻度に検出され, またマウスやラットの培養細胞を効率よくトランスフォームするHPV16型の癌遺伝子E6E7を導入したトランスジェニックマウス (Tgマウス) を作成していた。このマウスでは, 生後10か月ごろより高頻度に精巣腫瘍 (Leydig細胞腫瘍) が発生する。この腫瘍ではトランスジーンE6E7の発現とともに癌原遺伝子の一つであるc-kitレセプターチロシンキナーゼ及びそのリガンドであるSteel因子 (SLF) がともに強く発現していることを明らかにしてきた。本研究ではE6遺伝子による癌化に関連の深いp53及びc-kitレセプターをそれぞれ欠損させた変異マウスを用いて, このTgマウスにおける発癌へのこれら遺伝子の関与を明らかにすることを目的とした。

#### 【方法ならびに成績】

1. HPV 16E6癌遺伝子産物は癌抑制遺伝子産物p53と直接結合し, p53遺伝子の機能を不活化することが知られており, このことが, HPVによる発癌に重要であると考えられている。そこでHPV Tgマウスとp53欠損マウスを交配し, p53遺伝子欠損によるTgマウスの発癌性への影響を調べた。その結果, p53ヘテロ欠損Tgマウスで, 観察した全例において悪性リンパ腫が発生し, マウスは生後7カ月齢までに全て死亡した。この腫瘍は, 抗Thy1.2抗体を用いた免疫組織染色によりTリンパ腫であることが判明した。これは, p53ホモ欠損マウスで高頻度に発生するリンパ腫の所見と一致した。このp53ヘテロ欠損Tgマウスでは, 正常組織 (胸腺・脾臓) 及び腫瘍細胞が存在するこれらの組織でE6E7トランスジーン発現を確認した。次に, これらの組織におけるp53蛋白質の発現をウェスタンブロット法で調べたところ, 1例を除いて全ての組織でp53蛋白質の消失を認めた。一方, これらの組織におけるp53mRNAの発現をノーザンブロット法マウスにより調べたところ, コントロールと変わらないレベルのp53mRNAの発現があった。このことから, p53は蛋白質レベルで分解・不活性化されたと考えられた。また, p53蛋白が確認された1例において, p53遺伝子の変異を調べたところ, hot spot領域において, 12bpの欠損が検出された。一方, このTgマウスでも精巣腫瘍は発生するが, その性質は, 野生型p53 Tgマウス (p53+/+ Tgマウス) と比べて, とくに変化はみられなかった。また, p53+/+ Tgマウスの精巣腫瘍におけるp53蛋白質の発現及びp53遺伝子変異の有無を調べたところ, 血球系よりも強いトランスジーン発現があるにも関わらずp53の消失はなく, また, 遺伝

子変異も見つからなかった。

2. c-kit 及び SLF 遺伝子の発現が精巣腫瘍の発生にどのような役割を果たしているかを検討するため、c-kit の欠損変異である W 変異マウスと Tg マウスを交配し、c-kit の活性を抑制したときの腫瘍発生にたいする影響を調べた。その結果、dominant negative 型変異である W<sup>v</sup> および W<sup>Δ</sup> をヘテロに導入した Tg マウスでは、腫瘍発生が顕著に抑制され、さらに、c-kit の両 allele に変異を導入した W/W<sup>v</sup> Tg マウスでは、精巣腫瘍の発生がほぼ完全に抑制された。これらのことから、HPV トランスジーン発現に加え、autocrine 機構の形成による c-kit レセプターの活性化が腫瘍発生に必須であることがわかった。

#### 【総括】

1. p53 ヘテロ欠損 Tg マウスに発生する悪性リンパ腫では、p53 蛋白質の消失がみられた。このことから、血球系において、E 6 の発現により p53 が消失し、p53 ホモ欠損と同様な状況が生じ、悪性リンパ腫が発生するようになったと考えられる。一方、精巣腫瘍では、強い HPV トランスジーン発現があるにもかかわらず、p53 の消失は認められなかった。HPV 16 E 6 による p53 の分解・不活性化には、おそらく、組織特異性があり、HPV による細胞癌化機構には、p53 の不活性化に依存する系と非依存性の系が存在する可能性がある。

2. c-kit の活性を抑制した Tg マウスでは、有意な腫瘍形成は認められなかったものの、腫瘍細胞は出現した。このことから、c-kit / SLF の活性化は、腫瘍細胞発生のイニシエーターというよりも腫瘍形成の促進因子（プロモーター）であると考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

ヒトパピローマウイルス (HPV) 16 型は子宮頸癌の発生に密接に関係しており、ウイルスの持つ E 6 E 7 遺伝子が癌化に重要な役割を果たしているものと考えられている。

本研究は、16 型 E 6 E 7 遺伝子を持つトランスジェニック (E 6 E 7 Tg) マウスを用いて E 6 E 7 Tg マウスの発癌に対する p53 遺伝子の関与、E 6 E 7 Tg マウスに頻発する精巣腫瘍の発生機構についてそれぞれ解析を行い、p53 遺伝子をヘテロに欠損した Tg マウスのすべてに T リンパ腫が発生し、このリンパ腫の発生に E 6 遺伝子による p53 の分解が重要な役割を果たしていることを見出した。また、精巣腫瘍の発生には p53 は関与せず、c-kit 遺伝子とそのリガンドである SLF 遺伝子の活性化による autocrine 機構の形成が重要であることなどを証明した。これらの結果は HPV 癌遺伝子による癌化に p53 不活化依存機構および p53 非依存機構があり、これら機構に組織特異性が存在することを示唆している。

以上の知見は HPV 癌遺伝子による発癌機構を解明するうえで極めて重要であり、学位に値するものと考えられる。